

# PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 05-262658

(43)Date of publication of application : 12.10.1993

---

(51)Int.Cl.

A61K 35/78

---

(21)Application number : 04-095797

(71)Applicant : NIPPON PAPER IND CO LTD

(22)Date of filing : 23.03.1992

(72)Inventor : SATOU TAKAHIRO

SATO SHINJI

TERAMASA SHIYUNICHI

YASHIRO JUN

---

## (54) IMMUNOSTIMULANT

### (57)Abstract:

**PURPOSE:** To provide the immunostimulant containing the hot water or warm water extract of glycyrrhiza after the extraction of glycyrrhizin as an active ingredient.

**CONSTITUTION:** Glycyrrhiza after the extraction of glycyrrhizin with water or an alkali aqueous solution is extracted with warm water or hot water at 40-120° C for 0.5-24hr, preferably at 50-95° C for 5-16hr. After the extraction, the supernatant is separated from the residue and then concentrated or dried. Or, a polymeric substance fraction is separated from the extraction solution or concentration solution by a membrane separation method, by an alcohol precipitation method, etc. The immunostimulant contains the extraction solution, concentration solution or polymeric substance fraction as an active ingredient. The immunostimulant is employed as an immunological function-activating agent and also for quasi-medicines, cosmetics, foods, specific healthy foods, beverages, feeds, etc.

---

## LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 07.02.1995

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number] 2715216

[Date of registration] 07.11.1997

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19)日本国特許庁(J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平5-262658

(43)公開日 平成5年(1993)10月12日

(51)Int.Cl.<sup>5</sup>

A 6 1 K 35/78

識別記号

庁内整理番号

A B D V 7180-4C

F I

技術表示箇所

審査請求 未請求 請求項の数 6(全 3 頁)

(21)出願番号 特願平4-95797

(22)出願日 平成4年(1992)3月23日

(71)出願人 000002347

山陽国策パルプ株式会社

東京都千代田区丸の内1丁目4番5号

(72)発明者 佐藤 恭広

千葉県市川市下貝塚2-19-5

(72)発明者 佐藤 伸治

神奈川県川崎市宮前区宮崎175-1 みやざき寮

(72)発明者 寺政 俊一

神奈川県川崎市宮前区宮崎175-1 みやざき寮

(72)発明者 八代 洵

東京都豊島区駒込4-10-12

(74)代理人 弁理士 箕浦 清

(54)【発明の名称】 免疫増強剤

(57)【要約】

【目的】 従来よりも簡便かつ安価に製造できる免疫増強剤及びその製造方法を提供する。

【構成】 グリチルリチン抽出後の甘草の熱水あるいは温水抽出物を有効成分として含有する免疫増強剤。

【効果】 グリチルリチン等の甘草中の有用物質の損失が少なく、簡単な操作で安価な免疫増強剤が製造できる。

1

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 グリチルリチン抽出後の甘草を原料とすることを特徴とする免疫増強剤。

【請求項2】 グリチルリチンを水或いはアルカリ水溶液で抽出した後の甘草を原料とすることを特徴とする免疫増強剤。

【請求項3】 グリチルリチン抽出後の甘草を温水或いは熱水で抽出することを特徴とする免疫増強剤。

【請求項4】 グリチルリチン抽出後の甘草の温水或いは熱水抽出液またはその濃縮液またはその乾燥物を有効成分として含有することからなる免疫増強剤。

【請求項5】 グリチルリチン抽出後の甘草の温水或いは熱水抽出液またはその濃縮液中の高分子物質画分を有効成分として含有することからなる免疫増強剤。

【請求項6】 グリチルリチン抽出後の甘草を原料として免疫増強剤を製造する方法。

## 【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、グリチルリチン抽出後の甘草の温水或いは熱水抽出物を免疫増強剤として用いることに関するものである。

【0002】

【従来の技術】我々は先に甘草から酢酸酸性下で抽出される画分、特にアフガニスタン産甘草の熱水抽出物を更に酢酸で抽出して得られる画分に、強い免疫増強効果を認め（特開平2-300136号公報）、更にこれらの画分が免疫増強作用に起因すると思われる抗腫瘍活性を有していることを認め抗腫瘍剤として用いられることを見出した（特開平3-255032号公報）。

【0003】従来、この物質を製造する場合には、未処理の甘草根の熱水抽出液を酸性に調整し、生成した沈殿物を除いた上清を中性に調整した後、生成した沈殿物を除いた上清に等量のアルコールを加えて生成した沈殿物をとる。更にこの沈殿物の1N酢酸抽出物に等量のアルコールを加え、生成した沈殿物から塩類を除くという方法で行われる。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】しかしながら、この方法は工程が複雑であるため大量生産には向かず、しかもグリチルリチンなど甘草中の他の有用成分を得ることが困難となり、水畜産用途に用いるには経済的にあまり好ましいものとはいえない。

【0005】また、甘草抽出物を含有する水畜産用飼料及び飼料添加剤（特開平3-173827号公報、特開平3-175934号公報、特開平2-250832号公報）は既に使用されているが、その有効性はグリチルリチンなどの解毒作用や抗菌作用を主たる要因としており、グリチルリチン以外の甘草中の免疫増強物質を有効成分として含有するものは今まで知られていなかった。

【0006】本発明は、従来方法の欠点を克服した新規

2

な免疫増強剤の製造方法を提供することを目的としている。

【0007】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、上記の目的を達成するために、鋭意研究を重ねた結果、グリチルリチンを水或いはアルカリ水溶液で抽出した後の甘草の温水或いは熱水抽出物及びその高分子物質画分に強い免疫増強活性を認め本発明を完成した。一方、水或いはアルカリ水溶液抽出操作を行わなかった甘草の熱水抽出物は免疫増強活性が弱かった。これは、グリチルリチンと共に抽出されるフラボノイドなど低分子物質の免疫抑制作用によるものと考えられ、従って本発明物質を得るためにこの抽出操作は必須である。免疫増強活性については実施例にて具体的に示した。

【0008】即ち本発明の免疫増強剤は、水或いはアルカリ水溶液でグリチルリチンを抽出した後の甘草の、温水或いは熱水抽出液またはその濃縮液またはその乾燥物またはそれらの高分子物質画分を有効成分として含有することを特徴とするものである。

【0009】本発明において用いられる甘草は産地や種に限定はないが、特にアフガニスタン産（*Glycyrrhiza glabra*）或いは新疆産（*Glycyrrhiza glandulifera*）の甘草を用いる方が好ましい。また、グリチルリチンの抽出は水或いはアルカリ水溶液、好ましくは0.1～0.5%のアンモニア水を使用し、抽出温度5～40℃、抽出時間1～24時間の範囲の条件で行うことが望ましい。

【0010】更に、グリチルリチン抽出後の甘草の温水或いは熱水抽出条件は、40～120℃、0.5～24時間、好ましくは50～95℃、5～16時間の範囲で行われる。抽出時の圧力は、通常やや加圧された状態が用いられるが、常圧でもさしつかえなく、所望ならば減圧にすることもできる。

【0011】抽出終了後、上清と残さを分離し、上清を濃縮或いは乾燥させる。この状態で使用しても充分な免疫増強活性を示すが、これから、膜分離法やアルコール沈殿法などを用いて分離した高分子物質画分を濃縮或いは乾燥させる事により、より高い効果を持つものを得る事ができる。これらの免疫増強活性は、マウスリンパ球に対するマイトジェン活性及び抗体産生促進活性を指標として測定した。

【0012】本発明の免疫増強剤は、様々な用途に使用できる。第1の用途は、その免疫増強作用をそのまま生かした免疫機能活性化剤、動物用免疫機能活性化剤である。第2の用途は、その免疫増強作用の発現を期待して配合される医薬部外品、化粧品、食品、特定保健用食品、飲料、飼料などである。

【0013】

【実施例】以下、本発明を実施例により詳細に説明するが、本発明はこれに限定されるものではない。

## 【0014】(実施例1)

免疫増強剤の取得：甘草根末100gに0.3%アンモニア水100mlを加え16時間抽出した後、ろ過操作により上清と残さに分け、残さを蒸留水50mlで洗浄、ろ過し残さを得る。この残さに蒸留水100mlを加え、50℃で12時間及び95℃で1時間抽出を行った後、上清を凍結乾燥し茶褐色の粉末を3～5%の収率で得た。これらをそれぞれサンプルA、Bとする。また、95℃1時間抽出の上清にメタノールを等量加え、生成した沈殿物を凍結乾燥し茶灰色の粉末を1～2%の収率で得た。これをサンプルCとする。また、上記のアンモニア抽出上清をpH7に中和し凍結乾燥したものをサンプルDとする。

【0015】また上記とは別に、甘草根末100gに蒸留水100mlを加え16時間抽出し、ろ過操作により上清と残さに分け、残さに蒸留水100mlを加え更に16時間抽出した後、ろ過し残さを得る。この残さに蒸留水100mlを加え、50℃で12時間及び95℃で1時間抽出を行った後、上清を凍結乾燥し褐色の粉末を5～7%の収率で得た。これらをそれぞれサンプルE、Fとする。また、95℃1時間抽出の上清にメタノールを等量加え、生成した沈殿物を凍結乾燥し茶褐色の粉末を1～3%の収率で得た。これをサンプルGとする。また、上記の水抽出上清を凍結乾燥したものをサンプルHとする。

## 【0016】(実施例2)

マイトジェン活性の測定：96穴プレートにマウスの脾臓細胞とサンプルを加え、48時間培養した後、プロピ\*

\* ジュウムヨウダイド(P1)で生細胞を染色、蛍光強度を測定することにより細胞の増殖量を定量した。結果を図1に示す。

【0017】図1に示した結果から、サンプルA、B、C、E、F、Gすべてに強いマイトジェン活性のあることがわかった。サンプルD、Hには活性がなく、かえって抑制する傾向がみられた。

## 【0018】(実施例3)

抗体産生促進活性試験：96穴プレートにマウスの脾臓細胞とサンプルを加え、48時間培養した後、培養上清を採取する。そして、その培養上清中の抗体(1gM)を蛍光抗体法で定量することによって測定した。結果を図2に示す。

【0019】図2の結果から、サンプルA、B、C、E、F、Gすべてに抗体産生を促進する作用のあることがわかった。一方、サンプルD、Hには抑制する傾向がみられた。

## 【0020】

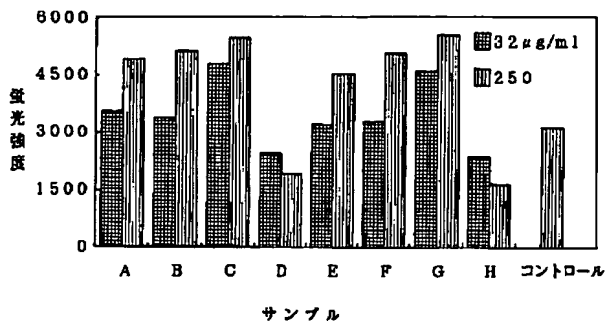
【発明の効果】上記実施例の示すように、本発明の物質は強い免疫増強活性をもち、グリチルリチンなどの甘草中の有用成分を損なうことなく、簡便な操作で安価に製造できることが確認された。

## 【図面の簡単な説明】

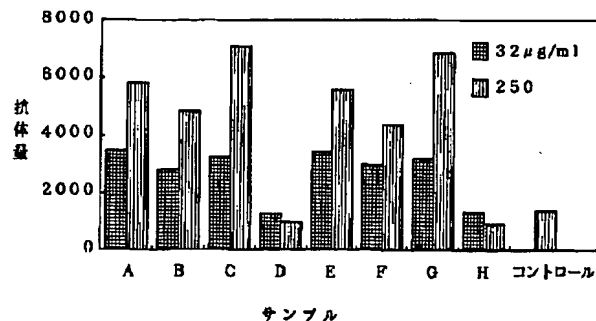
【図1】本発明免疫増強剤のマイトジョン活性を示す実測図である。

【図2】本発明免疫増強剤の抗体産出促進活性を示す実測図である。

【図1】



【図2】



【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第3部門第2区分

【発行日】平成8年(1996)5月14日

【公開番号】特開平5-262658

【公開日】平成5年(1993)10月12日

【年通号数】公開特許公報5-2627

【出願番号】特願平4-95797

【国際特許分類第6版】

A61K 35/78 ABD V 8217-4C

【手続補正書】

【提出日】平成7年2月7日

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】図面の簡単な説明

【補正方法】変更

【補正内容】

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明免疫増強剤のマイトジェン活性を示す実測図である。

【図2】本発明免疫増強剤の抗体産生促進活性を示す実測図である。